

Untersuchungen zur Frage
der Milchentkeimung
durch hochtouriges Zentrifugieren

Walter Habermann

Aus dem Institut für Tierhygiene
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. A. Meyn

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER MILCHENTKEIMUNG
DURCH HOCHTOURIGES ZENTRIFUGIEREN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Walter Habermann

aus

Frohnau (Erzgeb.)

München

1958



5349/60

Gedruckt mit Genehmigung der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Dekan : Prof. Dr. K. Zipf

Referent : Prof. Dr. A. Meyn

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 7. 1958

Meiner lieben Mutter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	2
A. Die Milch	2
1. Ihre Bedeutung für den Menschen	2
2. Bakterien in der Milch	2
3. Gesetzliches	3
B. Entkeimung der Milch	4
1. Pasteurisieren	4
2. Zentrifugieren	4
III. Eigene Untersuchungen	9
A. Material und Methodik	9
B. Versuchsergebnisse	12
1. Versuche mit Mikrokokken	12
2. Versuche mit Mycobacterium phlei	12
3. Versuche mit E. coli	18
C. Besprechung der Ergebnisse	21
IV. Zusammenfassung	27
V. Literaturverzeichnis	28
Lebenslauf	

I. Einleitung

Die Milch ist ein ideales, billiges und bekömmliches Nahrungsmittel, durch sie können aber auch Krankheiten übertragen werden. So ist z. B. die Gefahr der Infektion des Menschen mit *Mycobacterium tuberculosis variatio bovis* vor allem durch infizierte Milch gegeben. Andere Erreger, wie Staphylokokken, Streptokokken und Brucellen werden ebenfalls auf diesem Wege übertragen. Die Entkeimung der Milch, bei der in erster Linie die pathogenen Erreger unschädlich gemacht werden sollen, hat deshalb eine große Bedeutung.

Die Entkeimung der Milch wird seit vielen Jahren und mit gutem Erfolg durch das sogenannte Pasteurisieren vorgenommen. In neuester Zeit wurden nun aber auch Versuche unternommen, die in der Milch vorhandenen Keime durch Ausschleudern in hochtourigen Zentrifugen zu eliminieren.

Herr Professor Dr. Meyn hat mir deshalb die Aufgabe gestellt, Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit der Milchentkeimung durch Zentrifugieren durchzuführen.

II. Literatur

A. Die Milch

1. Ihre Bedeutung für den Menschen

Ernährungsphysiologisch kommt die Milch nach Klimmer-Schönberg (6) mit ihren Bestandteilen, dem Eiweiß, dem Fett, dem Milchzucker, den Vitaminen und Mineralien dem Ideal eines Nahrungsmittels am nächsten. Dieselben Autoren betonen, daß regelmäßiger Milchverzehr das Leben des Menschen um 10 % seiner Dauer verlängern kann. Allerdings nur dann, wenn die Milch keine für den Menschen schädlichen Stoffe enthält. Hierbei ist vor allem an die Übertragung von Krankheitserregern vom Rind auf den Menschen zu denken.

Die jährliche Milcherzeugung in der Bundesrepublik beträgt im Durchschnitt 8,5 Millionen Liter. Auch volkswirtschaftlich gesehen ist die Milch also ein wichtiger Faktor.

2. Bakterien in der Milch

Tuberkulose und Brucellose, Salmonellosen, Maul- und Klauenseuche und Euterentzündungen sind die wichtigsten Krankheiten des Rindes. Im Verlauf dieser Erkrankungen können die Tiere auch Erreger mit der Milch ausscheiden.

Ihrer weiten Verbreitung und Gefährlichkeit wegen ist in erster Linie die Tuberkulose zu nennen. Sie hat sich im Laufe dieses Jahrhunderts zur häufigsten Rinderkrankheit entwickelt. Neben den bedeutenden wirtschaftlichen Verlusten steht die Gefährdung der Gesundheit des Menschen im Vordergrund.

Als Koch im Jahre 1882 den Erreger entdeckte, begannen auch die Diskussionen über die Verbreitung der Seuche. Koch selbst verneinte im Jahre 1906 die Möglichkeit einer Übertragung vom Tier auf den Menschen. Heute wird die Pathogenität von *Mycobacterium tub. var. bovis* für den Menschen aber nicht mehr bestritten. Dabei verleiten nach Meyn (13) die wenigen in

Deutschland typendifferenzierten Fälle menschlicher Tuberkulose eher zu einer zu niedrigen Einschätzung der dem Menschen von der Rindertuberkulose her drohenden Gefahr. Die Übertragung auf den Menschen erfolgt vorwiegend über den Verdauungsweg, vor allem durch die tuberkulöse Milch und deren Erzeugnisse. Am meisten sind damit die Kinder gefährdet. In der Nähe tuberkulöser Rinder können sich aber Erwachsene auch aerogen infizieren (13).

Nach Schmiedt (22) hatten 1937 4,2 % aller tuberkulösen Rinder eine Ausscheidungstuberkulose des Euters. Man war lange Zeit der auch heute noch zum Teil bestehenden Ansicht, daß die Milch nur über ein tuberkulöses Euter infiziert werden kann. Allein diese Fälle restlos zu erfassen und auszumerzen, ist aber schon ein Problem. Doch es können unter Umständen auch Herde in anderen Organen zur Ausscheidung von Bakterien mit der Milch führen. Für die Fleisch- und Milchhygiene ist dabei praktisch jede Tuberkuloseform von Bedeutung, weil es zu symptomlosen Ablagerungen der Keime im Gewebe kommt. Im Blut befinden sie sich zwar nur kurze Zeit, ihre Ausscheidung mit der Milch ist aber möglich, denn sie wurde bei klinisch unveränderten Eutern festgestellt (Meyn 14). Wagener (27) fand vor dem Kriege, daß Tiere mit "offener" Tuberkulose nicht dauernd Bakterien ausscheiden. Andererseits fand er Ausscheider bei nicht offenen Formen. Da das Auftreten der Bakterien im Blut und deren Ausscheidung sowohl im Lungenschleim als auch in der Milch schubweise erfolgt, sind die sich widersprechenden Ergebnisse diesbezüglicher Untersuchungen zu verstehen.

3. Gesetzliches

§ 3 des Milchgesetzes lautet: "Milch von Kühen, deren Gesundheitszustand die Beschaffenheit der Milch nachteilig beeinflussen kann, darf, vorbehaltlich der Vorschrift des § 4, weder als solche in den Verkehr gebracht noch zu Milcherzeugnissen oder anderen Lebensmitteln verwendet werden."

Dieses Verbot bezieht sich insbesondere auf die Milch von Kühen, die mit äußerlich erkennbarer Tuberkulose behaftet sind, sofern sie sich in der Lunge in vorgeschrittenem Zustande befindet oder Euter, Gebärmutter oder Darm ergriffen hat. - Das Verbot des Abs. 1 gilt auch dann, wenn das Vorhandensein einer der Tuberkuloseformen des Abs. 2 in hohem Grade wahrscheinlich ist. Durch diese Bestimmungen wird das Auftreten von Tuberkelbakterien in der Handelsmilch zwar eingeeengt, aber durchaus nicht unmöglich gemacht. Die große Zahl der Tuberkulinreagenten steht dem entgegen. Solange die

Tuberkulose in den Rinderbeständen nicht restlos getilgt ist, können somit Keime in der Milch auftreten. Aus dieser gehen sie in infektionstüchtigem Zustand auch in die Molkereierzeugnisse über. Den Rahm fand man in 6 %, die Butter in 3 %, den Käse in 15 %, die wenig untersuchten Kefirproben sogar in 50 % der Fälle tuberkelbakterienhaltig (6).

Wenn auch den Tuberkulosekeimen in der Milch die größte Aufmerksamkeit geschenkt wird, so sind die übrigen pathogenen Keime dennoch nicht zu unterschätzen. Es kommen in Frage: Brucellen, Salmonellen, in Seuchengängen MKS-Virus, menschenpathogene Streptokokken und toxische Coli.

B. Entkeimung der Milch

1. Pasteurisieren

Um die Keime in der Trinkmilch abzutöten, ist ihre Pasteurisierung gesetzlich vorgeschrieben. Ausgenommen hiervon ist lediglich die Vorzugsmilch, die als Rohmilch in den Handel kommt und an die besonders hohe Anforderungen hinsichtlich Gewinnung, Zusammensetzung, Beschaffenheit, Behandlung, Verpackung und Beförderung gestellt werden.

Das Erhitzen bezweckt nicht nur die Keime abzutöten, sondern auch die Haltbarkeit zu verlängern. Nun haben aber die gebräuchlichen Erhitzungsverfahren nicht immer eine vollkommene Entkeimung gewährleistet. Wagner (27) teilte mit, daß Milchproben, die zu verschiedenen Zeiten und aus verschiedenen Milchgeschäften entnommen wurden, im Jahre 1948 in 4,8 % aller kurzzeiterhitzten Milchproben lebende Tuberkelbakterien enthielten und im Jahre 1949 in 10 % der pasteurisierten Milchproben. Durch den Einbau von Regler- und Umschaltgeräten in den letzten Jahren konnte aber allgemein die Sicherheit des Pasteurisierungseffektes erheblich gesteigert werden.

2. Zentrifugieren

Seit langem wurden in Laboratorien Zentrifugen verwandt, die verschiedenen Zwecken dienten. Schon vor 100 Jahren z. B. zentrifugierte man Blut und trennte so das Serum von den zellulären Bestandteilen. Fuchs (4) kam auf

die Idee, es einmal mit Milch zu versuchen. Seine eigentliche Absicht war, eine genauere polizeiliche Kontrolle der Milch zu gewährleisten. Er wollte die Aufrahmung beschleunigen und den Rahmanteil bestimmen, um Fälschungen rasch und sicher nachweisen zu können. Dazu konstruierte er eigens eine vorwiegend aus Holz bestehende "Zentrifugalmaschine". Ihm kommt das Verdienst zu, als erster Milch zentrifugiert zu haben. Aus dem Vorgang der Aufrahmung lernte man dann, Stoffe mit verschiedenem spezifischen Gewicht voneinander zu trennen. Bang (12) zentrifugierte Milch um festzustellen, wie sich Tuberkelbakterien dabei verhielten. Er beobachtete, daß sich der größte Teil im Bodensatz befand. Wenige waren im Rahm. Eine vollständige Reinigung der Milch war nicht möglich. Ilkewitsch (5) zentrifugierte Milch bei 3 600 Umdrehungen pro Minute (UpM) und stellte nach Ziehl-Neelsen gefärbte mikroskopische Präparate her. Er konnte damit in mehr Milchproben Tuberkelbakterien nachweisen als allein mit dem Meerschweinchenversuch.

Ein Gemisch zweier Flüssigkeiten - eine Emulsion - entmischt sich mit der Zeit in der Weise, daß sich die leichtere Komponente oben sammelt, während sich die schwerere darunter befindet. Feste Körper in Flüssigkeiten verhalten sich ebenso. Da man auch in der Milch nach natürlicher Sedimentation den größten Teil der Bakterien am Boden fand, schloß man, daß diese spezifisch schwerer sind als die Milch. Nun begann man systematisch, das spezifische Gewicht von Bakterien zu ermitteln.

Nach Bolten (3) liegt es bei allen Bakterien über 1,0, es betrug jedoch nie mehr als 1,544. Bei Stigell (25) schwankt die Wichte von *Bac. subtilis* zwischen 0,931 und 1,356, von *E. coli* zwischen 1,188 und 1,210, von Tuberkelbakterien zwischen 0,887 und 1,287. Als durchschnittlichen Wert gibt er 1,118 an. Ruffilli (19) gibt folgende Durchschnittswerte an: *Luftcoccus* 1,129, *Coli* 1,094, *Bac. subtilis* 1,105, dessen Sporen 1,115. Leontjew (10) fand einen Durchschnittswert von 1,055. Marpmann (11) gab das spezifische Gewicht der Tuberkelbakterien zwischen 1,018 und 1,046 an. Er trat der Ansicht entgegen, daß man Milch mit Zentrifugen reinigen könne. Das sei nur dann möglich, wenn sämtliche Verunreinigungen eine höhere Wichte hätten als die Milch. Deren Wichte ist aber nicht konstant, sondern schwankt schon physiologisch zwischen 1,028 und 1,032, die der Magermilch darüber hinaus bis 1,035.

Meyn (15) arbeitete mit einer Westfalia-Reinigungszentrifuge bei 9 700 UpM. Von 1 186 Milchproben waren 51 kulturell tuberkulosepositiv, im Tierversuch dagegen nur 16. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß die Versuchstiere in 27

der kulturell positiven Fälle vorzeitig starben. Durch die Verfolgsuntersuchung sind in 3 von kulturell ermittelten Beständen je 2 Kühe, in 31 Beständen je 1 Stück gefunden worden, die Bakterien mit der Milch ausschieden.

Schmidt-Lange (20) verwandte als erster eine Ecco-ultimo I Zentrifuge mit 15 000 UpM. Als Vergleichszentrifuge diente eine Ecco-superior H mit 3 000 UpM. In den Untersuchungen zeigte sich die Überlegenheit der schnelleren Zentrifuge. Der Wirkungsgrad jedoch schwankte zum Teil erheblich. Dies führte der Autor auf geringfügige Erschütterungen zurück. Unter anderem wurden Versuche mit Reinkulturen von *Mycobacterium tuberculosis* durchgeführt. Die Kulturen wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, filtriert und steigend in Zehnerpotenzen verdünnt. Je 10 ccm dieser Suspensionen wurden bei 1 500 und 15 000 UpM zentrifugiert. Der Bodensatz wurde auf Objektträger ausgestrichen und nach Ziehl-Neelsen gefärbt. Bei 0,01 g Kultur pro ccm Flüssigkeit konnten mit der langsamen Zentrifuge keine Tuberkelbakterien mehr nachgewiesen werden. Mit der schnelleren Zentrifuge wurden mit der zehnfach kleineren Menge noch regelmäßig, mit der hundertfach kleineren Menge noch einzelne Bakterien im Ausstrichpräparat festgestellt.

In weiteren Untersuchungen stellten Schmidt-Lange und Banning (21) fest, daß die schnellere Zentrifuge eine Leistungssteigerung um das rund Hundertfache ergab. Sie verwandten dazu getrocknete, gewogene, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Kulturen von *Mycobacterium tub. var. hominis* und *bovis*. Das entsprach den physikalischen Grundlagen, wonach sich die Zentrifugalkraft mit dem Quadrat der Geschwindigkeit erhöht. Bei zehnfacher Steigerung der Tourenzahl war somit eine hundertfache Verbesserung des Effektes zu erwarten. Daneben nützten sie als erste den Vorteil aus, durch schnellere Zentrifugen die Tuberkulosediagnostik zu verbessern. Bei einem Klinikpatienten mit Verdacht auf Tuberkulose wurden laufend Sputumuntersuchungen vorgenommen. Nach Homogenisierung und Zentrifugation mit einer Laborzentrifuge bis 3 000 UpM konnten im mikroskopischen Präparat nie Tuberkelbakterien nachgewiesen werden. Dagegen wurden bei 15 000 UpM Tuberkelbakterien ausgeschleudert und im Ausstrichpräparat nachgewiesen.

Auch Roloff und Preuß (18, 17) forderten zur besseren Tuberkulosediagnostik in der Humanmedizin die Verwendung schnellerer Zentrifugen.

Weiland (28) verglich eine Ecco-ultimo I bei 10 000 UpM mit einer herkömmlichen Zentrifuge von 2 500 UpM. Er untersuchte eingesandte Eiter-,

Urin- und Punktatproben auf Tuberkelbakterien. Die Proben wurden jeweils 15 Minuten zentrifugiert. Von 100 Proben erwiesen sich nach 2 500 UpM sieben als positiv, nach 10 000 UpM vierzehn.

Kröger und Rosarius (7) arbeiteten mit einer Ultrazentrifuge (Baujahr 1940) bei 30 000 UpM. Sie untersuchten Sputum, Eiter, Punktat und Urin. Bei Sputum war die Mehrausbeute gegenüber einer üblichen Zentrifuge gering. Sie führten das auf die Vorbehandlung der Sputumproben zurück, wobei das spezifische Gewicht des Suspensionsmittels durch Antiformin- und Alkoholzugabe herabgesetzt wurde. Dagegen stieg die Zahl der positiven Ergebnisse bei Eiter-, Punktat- und Urinproben nach dem mikroskopischen Befund durch schnelleres Zentrifugieren auf das Doppelte. Auch im Kulturversuch wurden häufiger Tuberkelbakterien nachgewiesen. Sie bezeichneten jedoch die Zentrifuge als technisch kompliziert und empfindlich, so daß sie für Routineuntersuchungen nicht als geeignet erschien.

Bahrenberg (1) zentrifugierte Milch mit einer "Pirouette". Er stellte Vergleichsuntersuchungen bei 3 000 UpM und 8 000 UpM an, wobei er eine Tuberkelbakteriensuspension jeweils 30 Minuten lang zentrifugierte. Schon die Menge des Bodensatzes betrug bei der höheren Tourenzahl das Doppelte. Er untersuchte das Sediment mikroskopisch, kulturell und im Tierversuch. Dabei stellte er fest, daß der Nachweis der Bakterien mikroskopisch und im Tierversuch mit steigender Tourenzahl besser gelang; kulturell war jedoch das Gegenteil der Fall. Die Erklärung hierfür sah er in der großen Menge Bodensatz, die, vornehmlich aus Casein bestehend, eine dichte Umhüllung der im Sediment vorhandenen Bakterien bildet und diese auch bei gründlichem Verstreichen nicht mit der Nährbodenoberfläche in genügend engen Kontakt kommen läßt, um ein Wachstum zu ermöglichen. Nach Meyn (16) kann man auch tatsächlich nur nach restlosem Auswaschen des Milcheiweißes aus dem Sediment mit einwandfreien Ergebnissen rechnen.

Lembke (8) befaßte sich mit der Milchentkeimung ohne Wärmeeinwirkung. Er versuchte, die Keime in der Milch durch UV-Strahlen abzutöten. Bei seinen Versuchen nahm er zum Vergleich Kontrollproben pasteurisierter Milch. Er kam zu dem Schluß, daß die UV-Entkeimung wirtschaftlicher sei und bessere Ergebnisse zeitige. Außerdem sei der Vitamin D-Gehalt um das 150fache gestiegen.

In neueren Arbeiten zusammen mit Gantz (9) befaßte er sich mit der Entkeimung im Schwerefeld. Als Versuchsgerät wurde eine Alfa-Laval-Zentrifuge

bis zu 22 500 UpM benutzt, die durchwegs sehr hohe Entkeimungswerte erreichte. Das Maximum lag bei einer Umdrehungszahl von 16 000 UpM über 99,9 %; darüber hinaus gingen die Werte wieder zurück. Als Temperaturoptimum geben sie 55-60 ° C an. Das Gerät arbeitete kontinuierlich, und der Effekt nahm mit der Zeit und der damit zunehmenden Verschlammung ab. Aus diesem Grunde wird die Konstruktion einer Trommel erwartet, die eine laufende Entschlammung ohne Austritt des Magermilchanteils ermöglicht.

Megele (12) verwandte für den Nachweis von Tuberkelbakterien im Blutplasma eine kontinuierlich arbeitende CEPA-Zentrifuge, die sich bis zu 40 000 mal in der Minute drehte. In 54 Proben von Sammelblutplasma von nach dem Fleischbeschauengesetz tauglichen Rindern konnte er in 26 Fällen (48 %) durch den Tierversuch Tuberkulosebakterien nachweisen. In Versuchen, künstlich infiziertes Plasma zu entkeimen, erzielte er Keimverminderungseffekte bis zu 99,4 %. Eine totale Entkeimung gelang ihm nicht.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Beschreibung der Zentrifuge

Für die Entkeimungsversuche stand eine CEPA-Schnellzentrifuge der Firma Carl Padberg, Lahr in Baden, zur Verfügung. Die Zentrifuge besteht aus einem Stator, dem festen Teil, und dem beweglichen Rotor. Dieser dreht sich mit einer Tourenzahl bis zu 45 000 UpM und erzeugt Zentrifugalkräfte bis zum 50 000fachen der normalen Schwerkraft. Diese Kräfte wirken senkrecht vom Mittelpunkt auf die Wandung des Zylinders. Der rotierende Zylinder hängt an einer flexiblen Spindel und ist durch diese mit dem Antrieb verbunden, der durch einen am Stator befestigten Elektromotor erfolgt. Das Fußlager am unteren Ende des Zylinders ist elastisch gehalten und gestattet dem rotierenden Körper, sich seinen eigenen Schwerpunkt zu suchen. Die Einstellung der Tourenzahl erfolgt durch einen vorgeschalteten Widerstand unter Beobachtung eines Kontakttachometers. Dieses wird auf die Spindelriemenscheibe aufgedrückt, die den Antrieb vom Motor auf den Rotor überträgt.

Die zu zentrifugierende Flüssigkeit wird durch eine im Fußlager angeordnete Düse in den rotierenden Zylinder eingespritzt, und zwar aus einem nebenstehenden Gefäß durch natürliches Gefälle. Der Austritt der geklärten Flüssigkeit erfolgt durch Öffnungen im Kopf des Drehkörpers. Eine Auffangschale leitet die Flüssigkeit dann in ein gewünschtes Gefäß. Über der ersten Schale ist eine weitere angebracht. Will man zwei emulgierte oder vermischte Flüssigkeiten trennen, so fängt jede der beiden Schalen eine Komponente auf. Die schwerere Komponente tritt im unteren Ablauf aus, die leichtere im oberen. Da die Flüssigkeit den Rotor kontinuierlich durchläuft, werden Festkörper während des Laufes der Maschinen parabelförmig an der inneren Zylinderwand zurückgehalten und lassen sich nach Stillsetzen des Apparates durch Abschrauben des Zylinderbodens entfernen.

Material

Als Suspensionsflüssigkeiten wurden Wasser, Voll- und Magermilch verwandt. Aqua dest. wurde im Autoklaven sterilisiert. Die Milch wurde an drei hinter-

einanderfolgenden Tagen je 20 Minuten in den Dampftopf gestellt. In diesen Suspensionsflüssigkeiten wurden Mikrokokken, Mycobacterium phlei und E. coli suspendiert. Die Zählung der Keime vor und nach dem Zentrifugieren erfolgte nach der Kochschen Plattenmethode.

Methodik der Herstellung der Suspensionen

Die Mikrokokken wurden mit einer sterilen Platinöse aus 24 Stunden alten Schrägagar-Kulturen entnommen und der Suspensionsflüssigkeit unter Reiben an der inneren Gefäßwand zugefügt.

Die Phlei-Keime wurden im ersten Versuch einer 9 Tage lang auf 3 %igem Glyzerin-Schrägagar bebrüteten Kultur entnommen. Für die folgenden Versuche wurden die Phlei-Kulturen 3 Tage lang im Brutschrank gezüchtet. Um eine möglichst homogene Suspension zu erzielen, wurden die Keime in einem sterilen Erlenmeyer-Kolben mit 0,9 %iger NaCl-Lösung und einer größeren Anzahl Glasperlen 30 Minuten lang im Schüttelapparat geschüttelt. Um trotzdem noch vorhandene größere Keimklumpen zu entfernen, wurde die Keimaufschwemmung anschließend durch eine mehrschichtige Lage Gaze filtriert.

Die Coli-Keime wurden auf zweierlei Weise gewonnen. Einmal wurde Verdauungsbouillon beimpft, zum anderen Schrägagar. Beide wurden 18 Stunden lang bebrütet.

Methodik der Entkeimung im Schwerefeld

Neben der Zentrifuge wurde ein Gefäß aufgestellt, aus dem die zu klärende Flüssigkeit in den Klarzylinder (K) des Rotors hineinfließt. Die Größe der Düsenbohrung bestimmte die Stundenleistung, die Wahl der Düse war daneben weitgehend von der Viskosität der Flüssigkeit abhängig. Vor Versuchsbeginn wurden die Zentrifuge sowie Zu- und Ableitungsrohre mit einer 3 %igen Formalinlösung durchspült. Nach 20 Minuten Einwirkung wurde dann das Gerät mit sterilem Wasser nachgespült, damit die Ergebnisse nicht von der Desinfektionswirkung in falschem Sinne beeinflusst werden konnten. Die Auffanggefäße wurden im Trockensterilisator entkeimt und unter möglichst sterilen Kautelen an den Abflußhahn der Zentrifuge montiert. Dann wurde nach Einschalten der Zentrifuge die jeweilige Tourenzahl eingestellt und der Zulaufhahn geöffnet.

Methodik der Keimzahlbestimmung

Der Keimgehalt wurde nach der Kochschen Plattenmethode ermittelt. Flaschen mit 99 ccm 0,9 %iger NaCl-Lösung wurden im Autoklaven sterilisiert. In die erste Flasche einer Reihe wurde 1 ccm der zu entkeimenden Flüssigkeit gegeben. Vorher war auf gutes Schütteln der Suspension zu achten, um annähernd homogene Verhältnisse zu schaffen. Damit war die Ausgangsflüssigkeit hundertfach verdünnt. Nach Schütteln wurde von dieser Verdünnung wiederum 1 ccm steril in die nächste Flasche pipettiert, die damit einer Verdünnung von 1:10 000 der Stammflüssigkeit entsprach. Mit einer dritten Flasche wurde ebenso verfahren.

Als Nährboden für Mikrokokken wurde 2 %iger Agar verwandt. Seine Herstellung: 500 g Rindfleisch wurden zerkleinert und mit einem Liter Aqua dest. gekocht, dann filtriert. 5 g NaCl und 10 g Pepton wurden zugegeben, und die Bouillon wurde bis zur Auflösung der zugefügten Substanzen erlitzt. Diese Fleischbrühe wurde mit 20 g Agar eine halbe Stunde lang im Autoklaven sterilisiert. Dann mußte der pH auf 7,6 - 7,8 eingestellt werden. Nach dreimal 1 Stunde im Dampftopf ist der Nährboden gebrauchsfertig. Beim Glycerin-Agar, der zur Züchtung der Phlei-Keime verwandt wurde, waren noch 30 ccm Glycerin auf 1000 ccm Bouillon zuzufügen. Die Coli-Keime wurden auf Gassner-Platten gezüchtet. Dieser Nährboden wird wie folgt hergestellt:

1000 ccm Agar wurden verflüssigt, 50 g Milchzucker und 0,85 g Wasserblau wurden in 85 ccm Aqua dest. 10 Minuten in den Dampftopf gestellt, 1,2 g Metachromgelb und 60 ccm Aqua dest. nur 2 Minuten. Die beiden Lösungen wurden dem Agar zugefügt und dieser 20 Minuten im Dampftopf erhitzt. Der Gassner-Agar hat moosgrüne Farbe.

Die Nährböden wurden mit einer Temperatur von 45° C in sterile Petrischalen gegossen.

Zur Keimzählung wurde sofort aus der ersten Flasche der Verdünnungsreihe 1,1 ccm mit einer Milchpipette entnommen. 1 ccm und 0,1 ccm wurden in je eine Platte mit dem noch flüssigen Nährboden gebracht und durch vorsichtiges Schwenken gründlich vermischt. Damit enthielten Platte I 1/100, Platte II 1/1000 der Keime der Stammflüssigkeit. Dasselbe erfolgte mit den übrigen Verdünnungen. Von jeder Verdünnungsstufe wurden 2 Platten in derselben Weise beimpft und als Keimzahl der Mittelwert aus diesen Platten berechnet. Dann wurden die Platten der Keimart entsprechend bebrütet. Die gleiche Art der Keimzahlbestimmung wurde vor und nach dem Zentrifugieren angewandt. Aus den so ermittelten Keimzahlen ist dann der Effekt der Keimausschleuderung in Prozent errechnet worden.

B. Versuchsergebnisse

1. Versuche mit Mikrokokken

Magermilch wurde drei Tage hintereinander je 20 Minuten im Dampftopf be-lassen und damit keimfrei gemacht. Dann wurde die Milch mit Mikrokokken infiziert und anschließend zentrifugiert. Die Ergebnisse von vier Untersuchun-gen, bei denen stets ein verschiedener Ausgangskeimgehalt gewählt wurde, sind in Tabelle 1 zusammengestellt worden.

Tabelle 1

Umdrehungszahl: 40 000 UpM

Durchflußgeschwindigkeit: 5 L/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
500 000	700	99,9
300 000	300	99,9
100 000	800	99,2
70 000	900	98,7

=====

Geringe Durchflußgeschwindigkeit (5 Liter in der Stunde), d.h. lange Ver-weildauer im Zylinder bei höchster Tourenzahl ergaben durchwegs eine hohe Keimverminderung. Dies wurde noch dadurch begünstigt, daß kugelförmige Partikel, wie sie Kokken ja sind, den physikalischen Bedingungen der Tren-nung am besten entsprechen.

2. Versuche mit Mycobacterium phlei

a) Eine drei Tage alte Mycobacterium phlei-Kultur wurde in verschie-dener Menge drei Proben mit sterilem Wasser zugesetzt. Die Keimzählung wurde parallel auf Platten und Schrägagar vorgenommen. Nach dem Be-impfen wurden die Nährböden im feuchten Milieu 72 Stunden lang bebrütet.

Tabelle 2

Umdrehungszahl: 40 000 UpM

Durchflußgeschwindigkeit: 5 L/h

Probe-Nr.	Nährboden	Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimver- minderung in %
1	Platte	1 200 000	50 000	95,8
	Schrägagar	200 000	10 000	95,0
2	Platte	200 000	9 000	95,5
	Schrägagar	10 000	1 000	90,0
3	Platte	100 000	6 000	94,0
	Schrägagar	60 000	4 000	93,3

Die Ausgangskeimzahlen bei den drei Parallelversuchen schwanken zwischen Platte und Schrägagar sehr erheblich, obwohl beide mit derselben Suspension beimpft wurden. Auch nach dem Zentrifugieren liegen die Keimzahlen der Röhrchen unter denen der Platten. Jedoch waren bei jenen die Kolonien größer. Daraus ist zu schließen, daß sich mehrere Keime zu einer Kolonie vereinigt haben. Deshalb ist die Keimzählung auf den Platten wesentlich genauer.

b) Eine 14 Tage alte Kultur von *Mycobacterium phlei* wurde entsprechend vorbereitet (siehe Methodik). Dreimal pasteurisierte Magermilch wurde damit in zwei Proben vermischt. Die Züchtung erfolgte auf Platten mit 3 %igem Glycerin-Agar.

Tabelle 3

Umdrehungszahl: 40 000 UpM

Durchflußgeschwindigkeit: 5 L/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
200 000	600	99,7
375 000	1 200	99,7

c) Eine drei Tage alte *Mycobacterium phlei*-Kultur wurde wie im vorigen Versuch im Schwerefeld geprüft.

Tabelle 4

Umdrehungszahl: 40 000 UpM

Durchflußgeschwindigkeit: 5 l/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
100 000	2 000	98,0
87 000	770	99,1

Die beiden Versuche zeigen, daß auch stabchenförmige Partikel, wie sie die Bakterien sind, bei hoher Drehzahl und geringer Durchlaufgeschwindigkeit fast restlos ausgeschleudert werden können.

.) Eine drei Tage alte Kultur von *Mycobacterium phlei* wurde nach üblicher Vorbehandlung zwei sterilen Magermilchproben zugefügt. Beim Zentrifugieren wurde die Umdrehungszahl bei gleichbleibender Durchflußgeschwindigkeit variiert.

Tabelle 5

Durchflußgeschwindigkeit: 5 l/h

Probe Nr.	Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
1	400 000	40 000	4 000	99,0
		35 000	10 000	97,5
2	500 000	30 000	3 000	99,4
		25 000	3 000	99,4
		20 000	10 000	98,0

Bei langer Verweildauer der Flüssigkeit in dem Klärzylinder ist auch bei niederen Drehzahlen der Effekt gleichbleibend hoch.

e) Eine drei Tage alte Mycobacterium phlei-Kultur wurde entsprechend vorbehandelt und drei Proben steriler Magermilch zugesetzt. Wie im vorhergehenden Versuch wurde die Umdrehungszahl variiert, diesmal die Durchflußgeschwindigkeit erheblich gesteigert.

Tabelle 6

Durchflußgeschwindigkeit: 24 L/h

Probe Nr.	Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
1	150 000	40 000	8 000	94,6
	35 000	35 000	12 000	92,0
2	220 000	40 000	13 000	94,1
		35 000	17 000	92,3
3	300 000	40 000	10 000	96,7
		35 000	10 000	96,7
		30 000	40 000	86,7
		25 000	21 000	93,0

Die Ergebnisse zeigen, daß bei größerer Stundenleistung die Werte für die Keimverminderung in Abhängigkeit von der Tourenzahl sinken. Bei niederen Tourenzahlen sind sie wesentlich ungünstiger als bei hohen. Eine Abhängigkeit von der Ausgangskeimzahl ist nicht abzuleiten.

f) Eine drei Tage alte Mycobacterium phlei-Kultur wurde bei sonst unveränderter Vorbereitung anstatt im Schüttelapparat 20 Minuten lang mit der Hand geschüttelt und dann 4 Proben mit Magermilch zugesetzt. Die Umdrehungszahl wurde variiert, die Durchflußgeschwindigkeit wurde konstant bei 24 Liter pro Stunde belassen.

Tabelle 7

Durchflußgeschwindigkeit: 24 L/h

Probe Nr.	Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
1	900 000	40 000	17 000	98,1
		35 000	36 000	96,0
		30 000	110 000	87,8
2	310 000	40 000	20 000	93,6
		35 000	22 000	92,9
		30 000	25 000	91,9
		25 000	41 000	86,8
3	1 300 000	25 000	110 000	91,5
		20 000	150 000	88,5
4	250 000	25 000	15 000	94,0
		20 000	30 000	88,0
		15 000	50 000	80,0

Wie im vorhergehenden Versuch zeigte sich auch hier, daß in der Regel der Keimverminderungseffekt mit fallender Tourenzahl zurückging.

g) Vollmilch wurde nach dreimal 20 Minuten Dampftopfbehandlung mit einer drei Tage alten Mycobacterium phlei-Kultur infiziert und dann zentrifugiert.

Tabelle 8

Durchflußgeschwindigkeit: 22 L/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimvermind. in %
400 000	40 000	40 000	90,0
	40 000	33 000	91,8
	20 000	120 000	70,0

Die Ergebnisse mit Vollmilch sind bedeutend schlechter als die mit Magermilch. Bei mehr als 30 000 UpM geht der Rahm in den festen Aggregatzustand über und bildet einen Hohlzylinder in der Achse des Rotors. Im mikroskopischen Präparat konnten im Ausstrich von diesem MilCHFett - nach Ziehl-Neelsen gefärbt - einige säurefeste Stäbchen nachgewiesen werden. Die Ursache der weniger guten Keimausschleuderung in Vollmilch liegt meines Erachtens darin, daß Rahm und Magermilch verschiedene Sedimentationskonstanten haben. Mit Eintritt der Milch in den rotierenden Zylinder setzt die Aufrahmung ein. Diese hängt von der Drehzahl ab. Der leichtere Anteil, der Rahm, wird sich zentral, die spezifisch schwerere Magermilch peripher im Zylinder befinden. Nun ist die Geschwindigkeit und damit die Trennkraft in der achsennahen Schicht geringer. Auch die höhere Viskosität des Rahms ist zu bedenken. So kann man sagen, daß die Rahmschicht ein Reservoir von Keimen darstellt. Dieses verringert sich mit steigender Beschleunigung, gibt jedoch dabei laufend Keime an die Magermilchschicht ab. Diese muß durchwandert werden, bevor sich die Pratikel an der Zylinderwand niederschlagen können.

h) Bei diesem Versuch wurde der zum Ausrüstungssatz der Zentrifuge gehörende Seruntrennzylinder "ST" verwandt, dessen Boden mit einer Rücklauf-sicherung versehen ist. Mycobakterien wurden in Magermilch suspendiert. Als Nährboden wurde 3 %iger Glycerin-Agar genommen. Je 0,1 ccm Suspension wurden auf dessen Oberfläche gebracht und mit einem Drigalski-Spatel durch zwei Kreisbewegungen verteilt.

Tabelle 9

Durchflußgeschwindigkeit: 27 L/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
877 000	40 000	113 000	86,2
	20 000	205 000	74,9

i) In diesem Versuch wurde lediglich der Boden des Seruntrennzylinders in den sonst verwendeten Klärzylinder geschraubt.

Tabelle 10

Durchflußgeschwindigkeit: 27 L/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
877 000	40 000	105 000	87,2
	20 000	166 000	79,7

In den beiden Versuchen h) und i), bei denen anstelle des sonst verwendeten Klärzylinders der Serumtrennzylinder verwendet wurde, trat eine relativ geringe Keimverminderung ein. Der Serumtrennzylinder hat andere Austrittsöffnungen als der Klärzylinder, die ein rascheres Austreten der Flüssigkeit aus dem Zylinder bewirken. Somit ergibt sich bei einer erhöhten Stundenleistung eine geringere Verweildauer des Zentrifugates. Dazu kommt, daß beim Eintritt der Suspension in den Rotor wahrscheinlich die Rücklaufsicherung ungünstige Strömungsverhältnisse hervorruft. Für die Trennung einer Bakteriensuspension erscheint deshalb der Serumtrennzylinder nicht geeignet.

3. Versuche mit E. coli

a) Verdauungsbouillon und Schrägagar wurde mit E. coli beimpft und 18 Stunden lang bebrütet. Die Kulturen wurden steriler Magermilch hinzugefügt, wobei der Schrägagar mit 0,9 %iger NaCl-Lösung abgeschwemmt wurde.

Die nachfolgenden Untersuchungsergebnisse zeigen (Tabelle 11), daß ebenso wie bei den Versuchen mit Mycobacterium phlei der Grad der Keimausschleuderung weitgehend von der Tourenzahl der Zentrifuge abhängig ist. Mit dem Rückgang der Umdrehungszahl nahm auch die Keimverminderung erheblich ab.

Tabelle 11

Durchflußgeschwindigkeit: 24 L/h

Züchtung auf	Keimzahl/ccm vor d. Zentrif.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentr.	Keimvermind. in %
Verdauungs- bouillon	5 000 000	40 000	165 000	96,7
		20 000	1 770 000	76,6
	1 950 000	40 000	155 000	92,1
		40 000	130 000	93,3
		20 000	270 000	86,2
		20 000	380 000	80,5
Schräg- agar	12 000 000	40 000	210 000	98,3
		20 000	3 000 000	75,0

b) Eine Coli-Kultur, 18 Stunden lang in Verdauungsbouillon bebrütet, wurde sterilem Wasser zugefügt und bei verschiedenen Umdrehungszahlen bei gleichbleibender Stundenleistung zentrifugiert.

Tabelle 12

Durchflußgeschwindigkeit: 25 L/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
1 140 000	40 000	9 000	99,2
	40 000	6 000	99,5
	20 000	83 000	92,7
	20 000	153 000	86,6

Mit Wasser als Suspensionsmittel wurde eine höhere Keimverminderung erzielt als mit Magermilch. Dafür ist die geringere Viskosität des Wassers gegenüber der Milch verantwortlich. Trotzdem läßt sich aber auch hier noch der leistungsmindernde Effekt einer Drosselung der Tourenzahl deutlich erkennen.

c) Vollmilch wurde mit E. coli-Bouillon-Kulturen vermischt und bei zwei verschiedenen Umdrehungszahlen zentrifugiert.

Tabelle 13

Durchflußgeschwindigkeit: 22 L/h

Keimzahl/ccm vor d. Zentrifug.	Umdrehungs- zahl/min.	Keimzahl/ccm nach d. Zentrif.	Keimverminderung in %
2 200 000	40 000	97 000	95,6
	40 000	102 000	95,4
	40 000	151 000	93,1
	20 000	290 000	86,8
	20 000	277 000	87,4
=====			

Die Untersuchungsergebnisse zeigen keine großen Unterschiede gegenüber der mit Magermilch erzielten Keimverminderung. Berücksichtigt muß bei diesem Vergleich allerdings werden, daß in den Vollmilchversuchen die Durchflußgeschwindigkeit um 2 Stundenliter niedriger war als bei den Magermilchversuchen. Das dürfte vor allem auch die Ursache dafür sein, daß bei einer Umdrehungszahl von 20 000 UpM mit Vollmilch fast bessere Ergebnisse erzielt wurden als mit Magermilch.

Verglichen mit den Phlei-Versuchen ist es bei E. coli zu einer höheren Keimverminderung gekommen.

C. Besprechung der Ergebnisse

Meine Untersuchungen sollten klären, inwieweit eine Entkeimung der Milch mit Hilfe einer schnell-laufenden Zentrifuge möglich ist. Dafür stand eine CEPA-Schnellzentrifuge zur Verfügung, die eine Höchstdrehzahl von 40 000 UpM erreichte. Der Keimverminderungseffekt wurde an Aufschwemmungen von Mikrokokken, Mycobacterium phlei und E. coli in Wasser, Voll- und Magermilch geprüft. Dabei wurden Umdrehungszahlen zwischen 15 000 UpM und 40 000 UpM gewählt.

Die Durchflußgeschwindigkeit wurde mit Hilfe verschiedener Einlaufdüsen variiert. Sie war in gewissen Grenzen auch von der Viskosität der Flüssigkeit abhängig. Keimzahlbestimmungen erfolgten vor und nach dem Zentrifugieren nach der Kochschen Plattenmethode. Den immerhin möglichen Schwankungen dieses Verfahrens wurde durch Errechnen des Mittelwertes von jeweils zwei Platten Rechnung getragen.

Physikalisch liegen den Separationsvorgängen folgende Gesetzmäßigkeiten zugrunde:

1. Die Zentrifugalkraft wird aus folgender Formel errechnet:

$$Z = \frac{m \cdot v^2}{r} \quad \text{wobei}$$

m = Masse in kg

v = Geschwindigkeit in m/sec

r = Radius

sind.

Zur Vereinfachung wird $\frac{v}{r}$ durch den Begriff der Winkelgeschwindigkeit $= \omega$ ersetzt. Danach ist $v = \omega \cdot r$ und

$$Z = m \cdot r \cdot \omega^2$$

In Worten ausgedrückt besagt diese Formel:

- a) Die Zentrifugalkraft nimmt linear mit wachsendem Radius und steigender Masse des geschleuderten Materials zu;
- b) sie steigt quadratisch mit wachsender Winkelgeschwindigkeit.

Große Zentrifugalkräfte erreicht man demnach am besten unter Begrenzung des Zylinderdurchmessers durch hohe Drehzahlen.

2. Die Trennkraft $T = (m_1 - m_2) r \omega^2$
 m_1 = Masse des sedimentierenden Teilchens
 m_2 = Masse der von ihm verdrängten Flüssigkeit.

Die Trennkraft wächst mit der Massendifferenz. Je größer die Masse des sedimentierenden Teilchens und je kleiner die Masse der zu verdrängenden Flüssigkeit ist, desto größer ist die Trennkraft.

Bedenkt man, daß nach Angabe verschiedener Autoren die Masse einzelner Bakterien unter Umständen weniger als 1,0 betragen kann, so ist eine 100 %ige Trennung schon rein theoretisch unmöglich, da die Masse der hier verwandten Suspensionsmittel über 1,0 liegt.

3. Die Trenngeschwindigkeit. Haben die sedimentierenden Teilchen Kugelform, so gilt die Formel von Stokes:

$$W = 6 \pi \eta v r$$

W = Reibungswiderstand
 η = Viskosität
 r = Teilchenradius

Ausgerechnet nach der Trenngeschwindigkeit:

$$v = \frac{2 (m_1 - m_2) r^2}{9 \eta}$$

Danach hängt die Trenngeschwindigkeit von dem Radius, dem spezifischen Gewicht des Teilchens und der Flüssigkeit, der Viskosität und der Erdbeschleunigung ab. Für langgestreckte, fadenförmige Gebilde gilt die Stokesche Formel nicht.

4. Die Verweildauer. Sie ist abhängig von der Durchflußgeschwindigkeit und dem Zylindervolumen.

Folgende Eigenschaften der suspendierten Teilchen können die Trennung beeinflussen: Art, Menge, spezifisches Gewicht, Größe, Gestalt, Oberfläche, elektrische Ladung, Adsorptionskraft, Eigen- und Molekularbewegung. Hinzu kommen Eigenschaften des Suspensionsmittels: Art, Menge, Konzentration, Temperatur, Viskosität, osmotischer Druck, Kohäsion, Oberflächenspannung, Wasserstoff-Ionenkonzentration. In der Praxis treten diese Faktoren allerdings etwas in den Hintergrund.

Die prozentualen Ergebnisse der Keimverminderung der mit *Mycobacterium phlei* unternommenen Versuche sind in Tabelle 14 zusammengestellt worden.

Tabelle 14

Ergebnisse der Versuche mit *Mycobacterium phlei*

Umdrehungszahl in der Minute	Keimverminderung in Prozenten bei		
	Magermilch		Vollmilch
	5 L/h	24 L/h	22 L/h
40 000	99,7	94,6	90,0
	99,7	94,1	91,8
	98,0	96,7	
	99,1	93,6	
	99,0	98,1	
35 000	97,5	92,0	
		92,3	
		96,7	
		92,9	
		96,0	
30 000	99,4	86,7	
		91,9	
		87,8	
25 000	99,4	93,0	
		86,8	
		91,5	
		94,0	
20 000	98,0	88,5	70,0
		88,0	
15 000		80,0	

Die Zusammenstellung zeigt deutlich, daß bei niedriger Stundenleistung, d. h. langer Verweildauer, schon mit 20 000 UpM hohe Werte erzielt wurden. Die weitere Zunahme der Keimverminderung war dann bis zu 40 000 UpM nur noch gering.

Bei herabgesetzter Verweildauer (24 L/h) und entsprechender hoher Stundenleistung zeigten die Ergebnisse eine deutliche Abhängigkeit von der Umdrehungszahl. Ein regelmäßig über 90 % liegender Keimverminderungseffekt wurde nur bei mehr als 30 000 UpM festgestellt. In Drehzahlbereichen unter 30 000 UpM war der Effekt der Keimausschleuderung etwas geringer, und die ermittelten Ergebnisse zeigten vor allem eine ziemlich große Schwankungsbreite. Im ganzen gesehen lagen im Durchschnitt die Ergebnisse bei hoher Stundenleistung aber deutlich unter denjenigen bei niedriger Stundenleistung.

Die Wahl von Vollmilch als Suspensionsmittel bedingt in allen Drehzahlbereichen abermals eine deutliche Verschlechterung des Keimverminderungseffektes.

Die prozentualen Ergebnisse der Keimverminderung der mit *E. coli* unternommenen Versuche sind in Tabelle 15 zusammengestellt worden.

Tabelle 15

Ergebnisse der Versuche mit *E. coli*

Umdrehungszahl in der Minute	Keimverminderung in Prozenten bei		
	Magermilch	Vollmilch	Wasser
	24 L/h	22 L/h	25 L/h
40 000	96,7	95,6	99,2
	98,3	95,4	99,5
	92,1	93,1	
	93,3		
20 000	76,6	86,8	92,7
	75,0	87,4	86,6
	86,2		
	80,5		

Die Versuche mit *E. coli* spiegeln dieselben Verhältnisse wider, die mit *Mycobacterium phlei* erzielt wurden. Besonders deutlich zeigen sie die Abhängigkeit des Effektes vom Suspensionsmedium. Wurden die Keime in Wasser

suspendiert, gelang ihre Ausschleuderung bei 40 000 UpM fast restlos,

Auch bei 20 000 UpM war die Keimverminderung gegenüber den Versuchen mit Magermilch noch erheblich höher. Als Ursachen dieser Erscheinungen müssen die günstigen Gewichtsverhältnisse zwischen Bakterien und Wasser einerseits, sowie die geringere Viskosität von Wasser der Milch gegenüber andererseits angesehen werden.

Die besten Ergebnisse hinsichtlich der Keimverminderung wurden bei Verwendung von Mikrokokken erzielt. Bei vier Versuchen betrug die Keimverminderung zweimal 99,9 %, je einmal 99,2 % und 98,7 %. Das dürfte darauf zurückzuführen sein, daß Mikrokokken kugelförmig sind, und für sie die Stokes'sche Formel gilt.

Für langgestreckte fadenförmige Gebilde gilt diese Formel nicht. Die Ausschleuderung von Mycobakterien fand somit unter ungünstigeren Bedingungen statt. Obwohl die Colibakterien, abgerundet bis oval von Gestalt, morphologisch zwischen Mikrokokken und Mycobakterien stehen, ließen sie nach dem Grad ihrer Ausschleuderung diese Mittelstellung nicht erkennen. Maßgebend für die Ähnlichkeit des Zentrifugiereffektes wird demnach wohl die Tatsache sein, daß die spezifischen Gewichte der Mycobakterien und der Colibakterien nahezu gleich sind.

Der besonders bei hohen Drehzahlen vermutete Eiweißverlust bestätigte sich nicht. Nach Svedberg (26) liegen die Sedimentationskonstanten der Milchproteine in Wasser etwa vier Zehnerpotenzen über denen der Bakterien. Die Bestimmung der Rohprotein- und Stickstoffzahlen nach Kjeldahl ergab folgende Werte:

	Normalmilch	n. 20 000 UpM	n. 40 000 UpM
Rohprotein	3,38 %	3,25 %	3,06 %
Stickstoff	0,54 %	0,52 %	0,49 %
=====			

Das ist bei 40 000 UpM ein Verlust, bezogen auf Normalmilch, von 0,32 % Rohprotein und 0,05 % Stickstoff. Diese Werte stimmen mit den Untersuchungen von Simonart und Debeer (24) gut überein, die einen Verlust von 0,31 % fettfreier Trockensubstanz fanden. Durch Homogenisieren der Milch konnten sie die Ausscheidung auf 0,11 % senken.

Abschließend kann auf Grund der Versuchsergebnisse festgestellt werden, daß eine Anwendung der Zentrifugalkraft zum Zwecke der Entkeimung der Milch derzeit noch nicht zu befürworten ist. Die noch so sehr erwünschte Bereitstellung roher Frischmilch muß damit auf die Vorzugsmilch beschränkt bleiben. Die Versuche bestätigen damit in gewissem Sinne die Ansicht Seele - m a n n s (23), der schrieb: "Die Frage, ob die Pasteurisierung der Milch entbehrt werden und an ihre Stelle ein Verfahren der Superzentrifugation ohne Erhitzen treten kann, bei dem man hofft, praktisch die meisten Bakterien aus der Milch durch Sedimentieren zu entfernen, scheint uns bisher nicht durch exakte Experimente sicher bewiesen zu sein."

IV. Zusammenfassung

1. Zur Klärung der Frage, ob Milch mittels einer kontinuierlich arbeitenden, hoctourigen Zentrifuge (CEPA-Schnellzentrifuge) zu entkeimen ist, wurden 37 sterilisierte Magermilch- und 8 sterilisierte Vollmilchproben mit Kulturabschwemmungen von Mikrokokken, *Mycobacterium phlei* und *E. coli* gemischt und in verschiedenen Drehzahlbereichen zentrifugiert. Keimzählungen wurden vor und nach dem Ausschleudern nach der Kochschen Plattenmethode vorgenommen.
2. Eine vollständige Entfernung der zugesetzten Keime aus den Proben mittels Zentrifugieren gelang in keinem Falle.
3. Unter günstigsten Versuchsbedingungen - höchster Drehzahlbereich mit 40 000 UpM und geringste Stundenleistung mit 5 L/Stunde - wurde im Durchschnitt in Magermilch bei Mikrokokken eine Keimverminderung um 99,4 % und bei *Mycobacterium phlei* eine Keimverminderung um 99,1 % erzielt.
4. Bei einer Stundenleistung von 24 L/Stunde und gleicher Umdrehungszahl betrug der durchschnittliche Ausschleuderungseffekt in Magermilch bei *Mycobacterium phlei* 95,4 % und bei *E. coli* 95,1 %, in Vollmilch bei *Mycobacterium phlei* 90,9 % und bei *E. coli* 94,7 %.
5. Bei 20 000 UpM und einer Stundenleistung von 24 L betrug die durchschnittliche Keimverminderung in Magermilch bei *Mycobacterium phlei* 88,3 % und bei *E. coli* 79,6 %, in Vollmilch bei *Mycobacterium phlei* 70,0 % und bei *E. coli* 87,1 %.
6. Die Versuche zeigen, daß Milch auch durch hoctouriges Zentrifugieren nicht ganz entkeimt werden kann. Dadurch ist es zur Zeit noch nicht möglich, die Pasteurierungsmaßnahmen durch ein solches Verfahren zu ersetzen.

V. Literaturverzeichnis

- 1) Bahrenberg, L. Untersuchungen über den Nachweis von Tuberkel-
bakterien in der Milch mit hochtourigen Zentri-
fugen. Vet. med. Diss. Gießen 1954

- 2) Bang, B. Experimentelle Untersuchungen über tuberkulöse
Milch. Dtsche Zschr. f. Tiermed. 17/1 (1886)

- 3) Bolten zit. nach Bahrenberg, L.

- 4) Fuchs, P. Zur Einführung der Zentrifugalkraft als Mittel
zur Aufrahmung und zur Bestimmung des Fett-
gehaltes der Milch. Zschr. f. Fleisch- u. Milchhyg.
15/169 (1905)

- 5) Ilkewitsch, K. Neue Methode zur Entdeckung von Tuberkelbazil-
len in der Milch mittels der Zentrifuge.
Münch. Med. Wschr. 5 (1892)

- 6) Klimmer-Schönberg
 Milchkunde und Milchhygiene, 6. Aufl. Verlag
M. u. H. Schaper, Hannover

- 7) Kröger-Rosarius Zur Verwendung von schnellen Zentrifugen in
der Methodik des Tuberkelbakteriennachweises.
Zbl. f. Bakt. 154/213 (1949)

- 8) Lembke, A. Milchentkeimung ohne Wärmeeinwirkung.
Verlag Dr. A. Fehr, Kempten (1949)

- 9) Lembke, A. ; H. Gantz
 Milchentkeimung im Schwerefeld?
Kieler Milchwirtsch. Forsch. Ber. 7 (1955)

- 10) Leontjew, H. Zur Biophysik der niederen Organismen.
Zbl. f. Bakt. 107/308 (1928)
- 11) Marpmann, K. Über die Reinigung von Milch von Tuberkel-
bakterien durch Zentrifugieren.
Milchztg Jg 32/642
- 12) Megele, S. Zum Vorkommen von Tuberkelbakterien im
Blutplasma und zur Frage einer Entkeimung des
Plasmas im Schwerfeld.
Vet. med. Diss. München 1956
- 13) Meyn, A. Die Rindertuberkulose als Quelle menschlicher
Tuberkuloseformen. Mh. f. Tierheilkunde 40 (1952)
- 14) derselbe Zur Frage der Ausscheidung von Tuberkelbakterien
durch das klinisch veränderte Euter.
Mh. f. Tierheilkunde 4 (1952)
- 15) derselbe Über den Nachweis von Tuberkelbakterien in der
Mischmilch. Zschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 51/1
(1940)
- 16) derselbe Die Mycobakterien in der Milch.
Zbl. f. Bakt. 158 (1952)
- 17) Preuß, H. Über die Anreicherung von Tuberkelbakterien
mit Lyosin. Klin. Wschr. 140 (1949)
- 18) Roloff, W. Erkennen und Erfassen der Lungentuberkulose.
Ärztl. Wschr. 42 (1947)
- 19) Ruffilli, D. Untersuchungen über das spezifische Gewicht
von Bakterien. Biochem. Zschr. 263 (1938)
- 20) Schmidt-Lange, W. Schnellere Zentrifugen ins Laboratorium.
Klin. Wschr. 1/20 (1940)

- 21) Schmidt-Lange, W.; H. Banning
Verbesserter Tuberkelbazillennachweis durch
schnellere Zentrifugen.
Klin. Wschr. 1 (1941)
- 22) Schmiedt zit. nach Klimmer-Schönberg
- 23) Seelemann, M.; H. Buschkiel; K.H. Wegener; A. Obiger
Rohe oder pasteurisierte Milch. Diskussionsvorträge
des Instituts für Milchhygiene, Kiel (1957)
- 24) Simonart, P. und A. Debeer
The Netherlands Milk and Dairy.
J. 7 und 8, 117 (1953)
- 25) Stigell, R. Über das spezifische Gewicht einiger Bakterien.
Zbl. f. Bakt. 45/487 (1908)
- 26) Svedberg, Th. Die Ultrazentrifuge. Verlag Steinkopf, Leipzig (1940)
- 27) Wagener zitiert nach Klimmer-Schönberg
- 28) Weiland, U. Zur Verbesserung des Tuberkelbazillennachweises
im bakteriologischen Laboratorium.
Med. Klinik 15/313 (1946)

Am Schlusse meiner Arbeit danke ich
Herrn Professor Dr. Meyn für die Überlassung
des Themas und die jederzeit bereitwilligst
gewährte Unterstützung.

Ferner danke ich Herrn Dr. Schließer, der
mich beim Durchführen der Versuche und Ab-
fassen der Arbeit stets freundlich beraten hat.

Lebenslauf

Ich wurde am 3. September 1927 in Frohnau im Erzgebirge als Sohn des Stationsleiters vom Gaswerk Hans Habermann und dessen Ehefrau Lucie geb. Eienkel geboren.

Die Bürgerschule besuchte ich in Annaberg und Thum. Dort wurde ich Ostern 1938 in die Oberschule aufgenommen.

Im April 1944 erfolgte meine Einberufung zu den Luftwaffenhefeln. - 1946 legte ich die Reifeprüfung ab.

Das Studium der Tiermedizin begann ich 1952 in München. 1957 schloß ich mit der tierärztlichen Prüfung ab. Nach drei Monaten Praktikantenzeit am hiesigen Institut für Tierhygiene fertigte ich dort die vorliegende Dissertation an.

